Aus dem Strahleninstitut der Universität Tübingen
ehem. Direktor: Professor Dr. Robert Bauer

Untersuchungen

über den Einfluß von gegengeschlechtlichen Hormonen mit und ohne Strahlenbehandlung sowie gleichgeschlechtlichem Hormon auf die Häufigkeit von BARRschen Körpern, Chromozentren Amitosen, Kernknospungen und Kernfragmentationen an Krebszellen (Stamm HeLa) in vitro

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
HANS GEBHARD FARK
aus Salem/Baden

1968

9658

Aus dem Strahleninstitut der Universität Tübingen
ehem. Direktor: Professor Dr. Robert Bauer

Untersuchungen
über den Einfluß von gegengeschlechtlichen Hormonen mit und ohne Strahlenbehandlung sowie gleichgeschlechtlichem Hormon auf die Häufigkeit von BARRschen Körpern, Chromozentren, Amitosen, Kernknospungen und Kernfragmentationen an Krebszellen (Stamm HeLa) in vitro

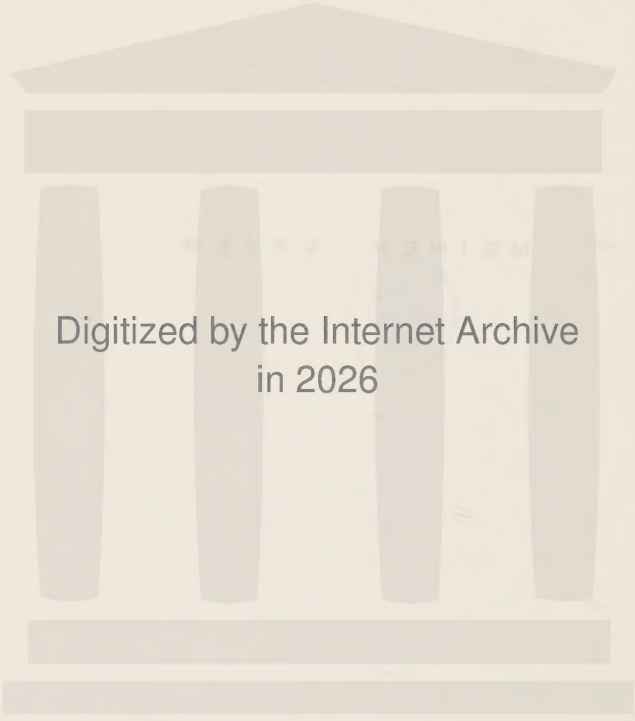
Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hans Gebhard Fark
aus
Salem/Baden

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. W. Graumann
1. Berichterstatter: Professor Dr. Karl Peters
2. Berichterstatter: Professor Dr. Robert Bauer

MEINEM VATER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0114

Herrn Professor Dr. Karl P e t e r s
sei an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Themas dieser Untersuchungen und seine fördernde Unterstützung gedankt.

Für die Arbeitsmöglichkeit im Medizinischen Strahleninstitut der Tübinger Universitätskliniken bin ich Herrn Direktor Professor Dr. Robert B a u e r zu Dank verpflichtet. Nicht zuletzt möchte ich Frau Dr. P e t e r s und Fräulein von C a r n a p für ihre stets hilfsbereite Mitarbeit an den Versuchsreihen herzlich danken.

Sei

I. Einleitung 1

II. Eigene Untersuchungen 2

A) Material und Methode 2

B) Ergebnisse 7

1.) BARR'sche Körper und Chromozentren 7

a) Testosteron-Schering 7

b) Testosteron-Ciba 8

c) Testosteron-Schering + Röntgenbestrahlung 10

d) Progynon B 12

2.) Amitosen, Kernknospungen + Fragmentationen 14

a) Testosteron-Schering 14

b) Testosteron-Ciba 14

c) Testosteron-Schering + Röntgenbestrahlung 14

d) Progynon B 15

III. Diskussion 16

IV. Zusammenfassung 27

V. Literaturverzeichnis 29

VI. Anhang (Tabellen und Bilder) 37

I. Einleitung

Bei der Behandlung von Mamma-Karzinom-Patientinnen mit gegengeschlechtlichem Hormon, wurde bei einem Teil der Erkrankten eine auffallende Verschlechterung des Krankheitsverlaufes durch vermehrtes Tumorwachstum beobachtet (HIENZ 34).
Diese Befunde führten zu der Hypothese, dass es sich bei den Tumoren dieser Patientinnen um männlich orientierte Tumoren handele. Eine diesbezügliche Untersuchung ist durch die von BARR (4) erstmals beschriebenen und in der Literatur oft nach ihm benannten Körperchen, die eine zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung gestatten, möglich.

Uns interessierte speziell die Frage, welchen Einfluss gegengeschlechtliches und gleichgeschlechtliches Hormon auf die BARR'schen Körper und den Zellkern haben, und wieweit dieser Einfluss durch eine zusätzliche Bestrahlung verändert wird.

II. Eigene Untersuchungen

A) Material und Methode

Für unsere Versuche verwendeten wir in vitro gezüchtete Karzinomzellen "Stamm HeLa". Diese wurden von GEY (27) und Mitarbeitern im Jahre 1951 bei Versuchen isoliert, die zur Ermittlung des Wachstumspotentials normaler und karzinomatöser Zervixzellen dienten.

Das epitheliale, in vitro meist einschichtige Wachstum der HeLa-Zellen, sowie das Auftreten von Riesenzellen mit einem, mehreren bis vielen Zellkernen und zahlreichen normalen, mehrpolaren und gestörten Mitosen charakterisierten den HeLa-Zellstamm (Peters 51).

In Vorversuchen stellten wir fest, dass bei den HeLa-Zellen unserer Züchtung die Häufigkeit für Barr-positive-Zellkerne 7,2 $\pm$ 1,6% beträgt. Die Züchtung der HeLa-Zellen erfolgte in Vierkantflaschen. Es wurde das Medium LE - ein mit aqua Avi dest. angesetztes Trockenmedium - unter Zugabe von 10% menschlichem Serum verwendet. Der p_H-Wert des Mediums wurde auf 7,2 eingestellt. Außerdem wurden als Antibiotika Penicillin (100 I.E./ml), Streptomycin (100 µg/ml) und Nebacetin (100 E/ml) zugegeben. Für die Versuche wurden die Zellen trypsiniert, zweimal mit Medium gewaschen und in Züchtungsmedium aufgenommen. Von den suspendierten Zellen wurden je 0,5 ml mit Pasteur-Pipetten auf Deckgläser in Rollertubes gebracht. Nach 4-stündigem Absetzen und Anhaften der Zellen an die Deckgläser wurde das Medium auf 2 ml ergänzt und die Rollertubes in den Roller gebracht. Der Roller drehte sich mit 6 bis 8 Umdrehungen pro Stunde. Die Bruttemperatur betrug 37° C. 24 Stunden nach dem Ansetzen der Kulturen erfolgte die Zugabe der Hormone. Zur Behandlung der HeLa-Zellen gelangten als gegengeschlechtliche Hormone die Testosterone der Firmen Ciba

und Schering, als gleichgeschlechtliches Hormon das Progynon B von Schering. Jedes Hormon kam in einer eigenen Versuchsreihe mit drei verschiedenen Konzentrationen zur Anwendung, wobei jede Konzentration an 5 Kulturen getestet wurde. Bei jedem dieser Versuche wurden 5 unbehandelte Zellkulturen als Kontrollen mitgeführt.

In einem weiteren Versuch wurden die Zellen ausser einer Behandlung mit Testosteron-Schering einer Röntgenbestrahlung ausgesetzt: eingestrahlt wurden 200 R (18 mA, 0,5 mm Cu, 200 KV, FHA 40 cm). Das Hormon wurde nur in der II. der vorher getesteten Konzentrationen verwendet.

Der Versuch wurde wie folgt aufgegliedert:

5 Kontrollen
5 Kulturen + Testosteron (II.Konz.)
5 Kulturen + 200 R Rö
5 Kulturen + 200 R Rö + Testosteron (II.Konz.)

Als Hormonkonzentration I wurde eine Verdünnung von I/200 000, als Konzentration II eine Verdünnung von I/2 000 000 und als Konzentration III eine Verdünnung von I/20 000 000 genommen.
Die als stärkste Konzentration verwendete Dosis von I/200 000 zeigte in einem Vorversuch keine toxischen Nebenwirkungen, während bei einer Konzentration von I/20 000 diesbezügliche Beobachtungen gemacht wurden.
24 Stunden nach der Hormonzugabe beziehungsweise nach der Bestrahlung wurden die Zellen für 15 Minuten nach Bouin-Allen fixiert, und nach Feulgen gefärbt. Dazu wurde 10-15 Min. lang in 1n HCl bei 60°C hydrolisiert. Anschliessend erfolgte kurzes Auswaschen der HCl in Leitungs-

wasser. Gefärbt wurde für 1 - 1 1/2 Stunden in fuchsinschwefliger Säure. Danach wurden die Präparate für 3 mal 2 Minuten mit SO_2-Wasser und für 5-10 Minuten mit aqua dest. gewaschen. Nach Überführung in die aufsteigende Alkoholreihe und in Xylol erfolgte die Einbettung in Eukitt.
Die Präparate wurden mit dem Leitz-Ortholux, Ölimmersion (A. I, 3), Okular 10 x ausgezählt. Aus jeder Kultur wurden 100 Zellen ausgewertet und dann die Mittelwerte der 5 zu einer Gruppe gehörenden Kulturen errechnet.

Da bei bestrahlten,wie bei hormonbehandelten Zellen, durch Schädigung der Kernmembran und des Plasmas mitunter eine exakte Auswertung der Struktur erschwert ist, wurden nur die Kerne gezählt, die eine einwandfreie Deutung erlaubten. Außerdem wurden bei der mikroskopischen Auswertung die Blickfelder in konstanten Abständen über das ganze Präparat verteilt.

Die Beurteilung der Zellkerne erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten:

1.) Kerne ohne Chromozentren
2.) Kerne mit 1-2 Chromozentren
3.) Kerne mit 3-4 Chromozentren
4.) Kerne mit 5-6 Chromozentren (s.Abb.1)
5.) Kerne mit 1 randständigen Chromozentrum
6.) Kerne mit 2 und mehr randständigen Chromozentren (s.Abb.2)
7.) Kerne mit Barr'schem Zellkörper (s.Abb.3)

Als randständige Chromozentren wurden die Chromozentren angesehen, die - obwohl wie das Barr'sche Körperchen an der Zellkernmembran gelegen - entweder sehr klein waren oder in ihrer Gestalt nicht den von BOHLE und HIENZ (12) beschriebenen Formen entsprachen.

Die in unserer Arbeit als Barr-positiv gewerteten randständigen Chromozentren würden in der Mehrzahl mit der von BOHLE und HIENZ beschriebenen Makroform übereinstimmen.

Um die Zahl der Wirkungskriterien zu erweitern, wurde das Auftreten von Amitosen, Kernknospungen und Kernfragmentationen untersucht.

Zur Auswertung hierfür gelangten von jeder angesetzten Versuchsreihe je 2 der 5 Kulturen. Aus jeder Kultur wurden wieder 100 Zellkerne ausgewertet. Um zu möglichst objektiven Ergebnissen zu gelangen, wurden die bereits erwähnten Grundsätze beachtet.

Die Zellkerne wurden in folgender Weise ausgezählt:

1.) normalkonfigurierte Zellkerne (s. Abb. 1, 2 und 3)
2.) knospende Zellkerne (s. Abb. 4)
3.) Zellkerne in Fragmentation (s. Abb. 5)
4.) Zellkerne in Amitose (s. Abb. 6)

Als knospend wurden die Zellkerne gewertet, die nur 1 bis 2 deutliche nasenförmige Ausbuchtungen (s. Abb. 4) hatten. Zellkerne mit 3 und mehr solcher Ausbuchtungen (s. Abb. 5) wurden als fragmentiert gezählt. Als in Amitose begriffene Kerne wurden hantel- oder nierenförmige Kernformen (s. Abb. 6) gewertet.

Zur statistischen Beurteilung der Unterschiede zwischen den einzelnen zu vergleichenden Mittelwerten diente die t-Verteilung nach FISHER (25) für Sicherungsgrenzen P von 5%, 2%, 1% und 0,27%. Die Differenz von zwei zu ver-

gleichenden Mittelwerten M_D wird dabei mit dem Vielfachen der Differenz der Streuung σ_D ins Verhältnis gesetzt. Der Fehler der Mittelwertdifferenz wird nach folgender Formel berechnet:

$$\sigma_D = \sqrt{\frac{\sigma_I^2}{n_I} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}$$

Das Vielfache von σ_D stellt sich dar als

$$t = \frac{M_I - M_2}{\sigma_D}$$

Ein Unterschied zwischen zwei Mittelwerten gilt danach als signifikant, wenn die Differenz der Mittelwerte grösser ist als die Differenz der Streuung, multipliziert mit dem t-Wert:

$$M_D > \sigma_D \times t.$$

B) Ergebnisse

1.) BARR'sche Körper und Chromozentren.

a) Testosteron-Schering:

Die Zahl der BARR'schen Körper wird durch die Hormonzugabe nur geringfügig verändert. Der Kontrollwert beträgt 6,8%, unter der Wirkung der Hormonkonzentration I beträgt die Häufigkeit 6,6%, bei der II. und der III. Konzentration sind die Werte auf 9,2 und 7,6 gestiegen. Der erhöhte Wert nach Behandlung mit der Hormonkonzentration II beruht hauptsächlich auf den Ergebnissen zweier Kulturen. Diese Zunahme BARR-positiver Kerne ist statistisch nicht zu sichern.

Ein Vergleich zeigt, dass die Zellkerne mit 5-6 mittelständigen Chromozentren am häufigsten vorkommen. Sie erfahren unter der Hormonbehandlung eine signifikante Zunahme (s. Tab. 1, 5 und 8). Der Kontrollwert steht hier mit 38,4% den Werten nach Behandlung mit der I., II. und III. Hormonkonzentration mit 53,0%, 49,6% und 50,0% gegenüber.

Zellkerne mit 3-4 mittelständigen Chromozentren werden dagegen nach der Hormonbehandlung signifikant seltener. Der Kontrollwert beträgt 25,8% und fällt nach Behandlung mit der I., II. und III. Konzentration auf 4,4%, 5,6% und 2,8% ab. Zellkerne mit 1-2 oder 0 mittelständigen Chromozentren sind kaum vorhanden und verschwinden unter der Hormonbehandlung praktisch ganz. Bei 1-2 Chromozentren beträgt der Mittelwert der Kontrollen 4,8% gegenüber 0,2%, 0,0% und 0,0% nach Behandlung mit der I., II. und III. Konzentration. Diese Abnahme ist signifikant.

Kerne ohne Chromozentren finden wir im Mittel bei den Kontrollen zu 1,4% gegenüber 0,0%, 0,0% und 0,2% nach der I., II. und III. Hormonkonzentration.

Gleichsinnig zu den Ergebnissen der Zellkerne mit 5-6 mittelständigen Chromozentren werden die randständigen

Chromozentren durch die Hormonbehandlung gegenüber den Kontrollen vermehrt. Bei einem randständigen Chromozentrum steigt der Mittelwert von 14% der Kontrollen auf 20,4%, 15,2% und 20,4%, der der 2-3 randständigen Chromozentren von 8,8% bei den Kontrollen auf 15,4%, 20,4% und 19,0% nach Behandlung mit den Hormonkonzentrationen I, II und III. Während die Zunahme der Kerne mit 1 randständigen Chromozentrum nicht zu sichern ist, ergibt die Berechnung bei der Zunahme von 2-3 randständigen Chromozentren eine Signifikanz. Der direkte Vergleich der Ergebnisse untereinander wird in der Tabelle 8 ermöglicht, in der die Kontrollwerte gleich 100% gesetzt und die Werte der Versuchsreihen darauf bezogen sind.

Resumée: Unter der Einwirkung von Testosteron-Schering findet eine signifikante Zunahme der Zellkerne mit 5-6 mittelständigen und 2-3 randständigen Chromozentren statt. Gleichsinnig hierzu ist eine Tendenz zur Zunahme BARR-positiver Zellkerne und Zellkerne mit 1 randständigen Chromozentrum ersichtlich, die statistisch jedoch nicht zu sichern ist. Kerne ohne mittelständige Chromozentren werden nicht mehr registriert, ebenso sind Kerne mit 1-2 und 3-4 mittelständigen Chromozentren signifikant herabgesetzt.

b) Testosteron-Ciba:

Die Behandlung der Kulturen mit Testosteron-Ciba lässt keine wesentliche Wirkung auf die BARR'schen Körperchen erkennen. Der Kontrollwert steht mit 7,6% denen der Versuchsgruppen mit 6,6% in der I., mit 7,0% in der II. und mit 6,2% in der III. Hormonkonzentration leicht erhöht gegenüber. Diese Abnahme der BARR-positiven Zellkerne unter Hormoneinwirkung ist statistisch nicht zu sichern. Die Zellkerne mit 5-6 mittelständigen Chromo-

zentren kommen mit 55,0% wieder am häufigsten vor. Unter der Hormonbehandlung sind diese Werte jedoch geringfügig herabgesetzt (I., II. und III.Konzentration: 47,6%, 52,0% und 46,8%). Eine signifikante Verminderung erfahren die Zellkerne mit 3-4 mittelständigen Chromozentren durch die Hormonbehandlung. (Kontrollen: 7,4%, gegenüber 3,2%, o,o% und 0,o% unter der I., II. und III. Konzentration.)

Zellkerne mit 1-2 und 0 mittelständigen Chromozentren treten bei den Kontrollen nicht auf. Während der Hormonbehandlung finden wir nur bei der II. Konzentration ein Vorkommen von 0,2% für 1-2 Chromozentren im Zellkern. Dagegen ist bei randständigen Chromozentren die Tendenz einer Zunahme ersichtlich, die bei 2-3 randständigen Chromozentren unter der Hormonbehandlung signifikant wird. Bei einem randständigen Chromozentrum pro Zellkern steigt der Mittelwert von 16,0% bei den Kontrollen auf 19,2%, 15,6% und 23,4%; der Mittelwert bei 2-3 randständigen Chromozentren von 14,0% bei den Kontrollen auf 23,4%, 25,2% und 23,6% nach Behandlung mit den Hormonkonzentrationen I, II und III.

Der direkte Vergleich der Ergebnisse in Tabelle 8 lässt die erhaltenen Befunde an Hand der auf die Kontrollwerte (=100%) bezogenen Werte deutlich werden.

Resumée:
Unter der Einwirkung von Testosteron-Ciba findet eine signifikante Abnahme der Zellkerne mit 3-4 mittelständigen Chromozentren statt. Im Gegensatz dazu sind die Zellkerne mit 2-3 randständigen Chromozentren signifikant erhöht.

c) Testosteron-Schering + Röntgenbestrahlung:

1.) Kontrollen: Testosteron-Sch. Konz. II.
Zuerst sind die Häufigkeitswerte der Kontrollen gegen die mit der II. Konzentration Testosteron-Schering behandelten Kulturen ausgewertet worden. Auffallend ist bei diesem Vergleich, dass die BARR-positiven Kerne nach der Hormonbehandlung abnehmen. Der Kontrollwert liegt bei 7,4%, der der behandelten Zellen bei 5,4%. Diese Abnahme ist jedoch statistisch nicht signifikant.(s.Tab.XIII).

Ebenso sinkt die Zahl der Zellkerne mit 5-6 mittelständigen Chromozentren ab (55,2% : 54,0%). Zellkerne mit 3-4 mittelständigen Chromozentren sind bei diesem Versuch auch in den Kontrollkulturen kaum anzutreffen und unterscheiden sich zahlenmässig kaum von den Befunden nach der Hormonbehandlung.

Bei dem Vergleich der Zellkerne mit randständigen Chromozentren sind die Werte nach Hormonbehandlung gegenüber den Kontrollen leicht erhöht. Bei einem randständigen Chromozentrum von 14,8% auf 16,4% - bei 2-3 randständigen Chromozentren von 22,0% auf 23,6%.

2.) Kontrollen: 200 R Röntgenstrahlen.
Ein Vergleich der Kontrollen mit den bestrahlten Kulturen ohne zusätzliche Hormonbehandlung zeigt hinsichtlich der BARR-positiven Zellkerne eine kaum nennbare Veränderung (Kontrollen 7,4%, bestrahlte Kulturen 7,6%). Dagegen ist eine Vermehrung der Zellkerne mit 5-6 mittelständigen Chromozentren festzustellen (Kontrollen 55,2%, bestrahlte Kulturen 58,6%). Zellkerne mit 0-4 mittelständigen Chromozentren können nach der Bestrahlung nicht mehr beobachtet werden.

Bei dem Vergleich der Zellkerne mit einem randständigen Chromozentrum weisen die Kulturen nach der Bestrahlung eine

Erhöhung von 14,8% auf 15,2% und bei 2-3 randständigen Chromozentren eine Verminderung von 22,0% auf 18,6% auf. Diese Differenzen reichen für eine statistische Sicherung nicht aus.

3.) Kontrollen: Testosteron-Sch. + 200 R Röntgenstrahlen. Die neben der Bestrahlung gleichzeitig mit Hormon behandelten Kulturen zeigen hinsichtlich der Häufigkeit der BARR-positiven Kerne von 7,2% gegenüber den Kontrollen mit 7,4% eine unbedeutende Verminderung.
Die Zellkerne mit 5-6 mittelständigen Chromozentren gehen nach der kombinierten Behandlung von 55,2% bei den Kontrollen auf 52,4% zurück. Zellkerne mit 0-4 mittelständigen Chromozentren treten nach der Bestrahlung mit Hormonbehandlung nicht mehr auf. Bei den randständigen Chromozentren (1) und (2-3) sind nach der Bestrahlung und Hormonbehandlung die Werte erhöht (Kontrollen 14,8%, kombinierte Behandlung 16,0% bzw. Kontrollen 22,0%, kombinierte Behandlung 24,4%). Die Unterschiede zwischen den Häufigkeitswerten der Kontrollen und den kombiniert behandelten Kulturen sind statistisch nicht zu sichern.

4.) 200 R Röntgen: Testosteron-Sch. + 200 R Röntgen: Testosteron-Sch.
Vergleicht man die Werte der 3 Versuchsreihen untereinander, so sind hinsichtlich der BARR-positiven Zellkerne die Werte nach Bestrahlung (7,6%) und nach Bestrhalung + Hormonbehandlung (7,2%) erhöht gegenüber denen der alleinigen Hormonbehandlung (5,4%). Zu einer statistischen Sicherung reichen die Unterschiede jedoch nicht aus.

Die Häufigkeit der Zellkerne mit 5-6 mittelständigen Chromozentren beträgt nach der Bestrahlung 58,6%, durch die zusätzliche Hormonbehandlung wird der Wert auf 52,4% herabgesetzt. Dieser Wert liegt dem Ergebnis nach alleiniger Hormonbehandlung mit 54% näher.

Ähnlich verhalten sich die Kerne mit einem randständigen Chromozentrum. Nach 200 R Röntgen beträgt der Wert 15,2%, durch die zusätzliche Hormonwirkung steigt er auf 16,0% und nach alleiniger Hormongabe liegt er bei 16,4%. Noch deutlicher wird die Tendenz bei den Kernen mit 2-3 randständigen Chromozentren. Nach der Bestrahlung liegt der Wert bei 18,6%, durch die zusätzliche Hormongabe steigt er auf 24,4% und nach alleiniger Hormonwirkung beträgt er 23,6%.

Resumée:
Die Kombination von Hormon und Bestrahlung lässt erkennen, dass die Hormonbehandlung sich auch in den bestrahlten Kulturen auswirkt, indem die durch die Bestrahlung hervorgerufenen Veränderungen weniger oder nicht mehr in Erscheinung treten. Eine Signifikanz dieser Effekte liegt jedoch nicht vor.

d) Progynon B (Schering):
Die Behandlung der Kulturen mit Progynon B zeigt ebenfalls keinen wesentlichen Einfluss auf das Auftreten von BARR-positiven Kernen. Der Wert der Kontrollen liegt bei 7,0% und die Werte nach der Behandlung mit der I., II.und III. Progynon-Konzentration bei 6,8%, 6,4% und 7,0%. Die Zellkerne mit 5-6 mittelständigen Chromozentren nehmen bei der I. und III. Konzentration ab, bei der II. Konzentration dagegen etwas zu (Kontrollen: 54,6%, I., II. und III.Konzentration: 51,6%, 56,8% und 51,6%). Zellkerne mit 3-4 mittelständigen Chromozentren treten nach Behandlung mit der I. Konzentration vermehrt auf (Kontrollen: 2,0%, I.Konzentration: 3,2%). Bei der II. und III. Konzentration ist eine signifikante Verminderung festzustellen (0,2% und 0,4% s. Tab.: XIII).

0 bis 2 mittelständige Chromozentren im Zellkern kommen mit Ausnahme der I. Konzentration nicht mehr vor.

Zellkerne mit einem randständigen Chromozentrum treten nach Behandlung mit der I.Progynonkonzentration verringert, nach der II.Konzentration in unveränderter Häufigkeit, nach der III.Konzentration vermehrt auf (Kontrollen: 18,0%, I., II. und III. Konzentration 17,8%, 18,0% und 20,4%). Bei 2-3 randständigen Chromozentren steigt der Wert nach Behandlung mit der II. Konzentration gering im Vergleich zu den Kontrollen, nach der I. und III. Konzentration etwas deutlicher an (Kontrollen: 18,4%, I., II. und III. Konzentration: 20,2%, 18,6% und 20,6%).

Resumée:
Progynon B (II. und III. Konzentration) verursacht bei Kernen mit 3-4 mittelständigen Chromozentren eine signifikante Herabsetzung der Häufigkeitswerte. Die erhöhten Werte bei den randständigen Chromozentren (1) und (2) in den Konzentrationen I und III liegen im Bereich der normalen Schwankungen und sind statistisch nicht zu sichern.

2.) Amitosen, Kernknospungen und Kernfragmentationen

a) Testosteron-Schering:

Die Behandlung der Kulturen mit Testosteron-Schering bewirkt eine Abnahme der normalkonfigurierten Zellkerne, sowie eine Zunahme der Kernknospungen und Kernfragmentationen. Die Wirkung scheint mit zwei Ausnahmen umgekehrt proportional der Hormondosis zu sein. So ist eine Steigerung der Amitosehäufigkeit nur mit der Hormonkonzentration II erzielt worden. Die Dosis erweist sich auch hinsichtlich der Vermehrung der Kernfragmentationen als die wirksamste.

Die Zunahme der Kernknospungen und Kernfragmentationen unter der Einwirkung der Hormonkonzentration III ist statistisch signifikant. (s. Tab.XIV).

b) Testosteron-Ciba:

Die Behandlung der Kulturen mit Testosteron-Ciba hat in noch stärkerem Ausmass ein Absinken der Zahl an normalkonfigurierten Zellkernen und eine Vermehrung der Kernknospungen und Kernfragmentationen zur Folge. Hinsichtlich der Knospungen erweist sich die III. Hormonkonzentration, hinsichtlich der Fragmentationen die I. Hormonkonzentration als die wirksamste. In Hormonkonzentration II bleibt die Zahl der Kernknospungen unverändert. Während die Amitosenhäufigkeit in der I. Hormonkonzentration ansteigt, bleibt sie in der II. und III. Konzentration unverändert. Die Zunahme der Kernknospungen und Kernfragmentationen unter der Einwirkung der Konzentration III ist statistisch signifikant. (s. Tab.X)

c) 200 R Röntgen + Testosteron-Schering:

Ein Vergleich der Kontrollen mit den testosteron-behandelten Kulturen zeigt keine wesentlichen Veränderungen. Die normalen Kerne kommen unter Hormonbehandlung sogar etwas häufiger vor; aber auch die Kernknospungen nehmen

zu. Dafür gehen die Kernfragmentationen und Amitosen leicht zurück.
Die mit 200 R Röntgen bestrahlten Kulturen zeigen im Vergleich zu den Kontrollen ein leicht verringertes Vorkommen normalkonfigurierter Zellkerne und eine Zunahme von Kernknospungen wie Kernfragmentationen. Die Zahl der Amitosen ist dagegen rückläufig.
Die mit Hormon behandelten und zusätzlich bestrahlten Kulturen zeigen gegenüber den Kontrollen eine leichte Zunahme der Kernknospungen. Dagegen gehen die Zahlen der Fragmentierungen und der Amitosen zurück. Ein Rückgang der Fragmentierungen besteht bereits bei den mit Testosteron-Sch. behandelten Kulturen dieser Versuchsreihe ohne Röntgenbestrahlung. Es zeigt sich, dass bei einer Kombination von Hormonwirkung und Bestrahlung die Effekte der Bestrahlung weniger deutlich zum Ausdruck kommen.
Der Rückgang der Amitosehäufigkeit bei den hormonbehandelten und den bestrahlten Kulturen ist nicht signifikant (s. Tab. XIV).

d) Progynon B:

Progynon B bewirkt mit abnehmender Konzentration ein Ansteigen der Zahl normalkonfigurierter Zellkerne und eine Abnahme der Kernknospungen und Kernfragmentationen. Dazu liegen aber keine statistischen Sicherungen vor (s. Tab. X). Die Zahl der Amitosen geht unter der Behandlung mit der II. und III. Hormonkonzentration leicht zurück, während die I. Hormonkonzentration noch eine leichte Steigerung der Amitosenzahl bewirkt (s. Tab. XIV).

III. Diskussion

In der Einleitung wurde schon auf die unterschiedliche Wirkung des männlichen Geschlechtshormons in der Behandlung von an Mamma-Karzinomen erkrankten Patientinnen hingewiesen. Der auffallend schlechte Krankheitsverlauf bei dem kleineren Teil der Patientinnen warf die Frage auf (HIENZ und EHLERS 34), ob es sich bei diesen Tumoren um "männliche Tumoren" handele. Eine Untersuchung der Tumorgewebe bezüglich einer Diskrepanz zwischen dem Geschlecht des Tumorträgers und des Tumors war durch die Entdeckung der Zellkernkörperchen durch BARR gegeben.

BARR und sein Mitarbeiter BERTRAM berichteten erstmals 1949 (4) - nachdem schon 1937 GEITLER (26) und etwas später SMITH (56) auf Geschlechtsunterschiede an Ruhekernen von Insekten hingewiesen hatten - über die Entdeckung geschlechtsunterschiedlicher morphologischer Merkmale an Zellkernen. Bei elektrophysiologischen Experimenten am Nervus hypoglossus der Katze war ihnen aufgefallen, dass bei weiblichen Tieren in der Mehrzahl in den Kernen von Nervenzellen nahe dem Nucleolus ein kleiner Chromatinkörper lag, dessen Struktur dicht, dessen Anfärbung stark basophil war und dessen Durchmesser I u betrug. In weiteren Untersuchungen wiesen BARR und seine Mitarbeiter nach, dass dies nicht nur eine Eigentümlichkeit der Ganglienzellen des Hypoglossus war, sondern ein gleicher Befund in allen anderen Abschnitten des ZNS erhoben werden konnte. Wegen seiner nachbarschaftlichen Beziehung zum Nucleolus erhielt dieses Chromatinkörperchen zunächst die Bezeichnung "Nucleolus-Satellit" (BARR, BERTRAM und LINDSAY 5).

Vor allem BARR und seine Schule dehnten diese Beobachtungen durch weitere Untersuchungen auf andere Tiere (MOORE und

BARR 45) und auch auf den Menschen aus (MYLLE und GRAHAM 49; BARR, BERTRAM und LINDSAY 5).

Diese Untersuchungen ergaben zugleich, dass die charakteristische Lage des Chromatinkörperchens nicht in der Nachbarschaft des Nucleolus sondern an der Innenseite der Zellkernmembran ist. Deswegen liess BARR (1) den Namen "Nucleolus-Satellit" fallen und ersetzte ihn durch die Bezeichnung "Geschlechtschromatin" (sex chromatin). Schliesslich wurde von der BARR'schen Schule neben dem ZNS auch eine Reihe anderer Gewebe bei verschiedenen Säugetieren (GRAHAM und BARR 28; MOORE, GRAHAM und BARR 47) und auch beim Menschen (MOORE und BARR 45) systematisch untersucht. Dabei ergab sich, dass in jedem Fall aus dem prozentualen Vorkommen dieses Chromatinkörperchens in den Zellkernen einer Gewebsart eine Aussage über das jeweilige Geschlecht des Probanden gemacht werden konnte.

Nachdem BARR mit seinen Untersuchungsergebnissen den Anstoss gegeben hatte, folgte auf diesem Gebiet eine Vielzahl von Veröffentlichungen, denen verschiedene praktische und theoretische Fragestellungen zugrunde lagen.

So wurde die BARR'sche Differenzierungsmethode von BOHLE und HIENZ (12) im Rahmen einer Untersuchung über Geschlechtsbestimmungen von Embryonen aus Endothelzellkernen der Plazentarzotten modifiziert:
Sie beschrieben die "klassische" Form des BARR'schen Zellkernkörperchens als ein 1-1,5 µ breites und 1,5-2 µ langes - in optimaler Lage der Innenseite der Zellkernmembran anliegendes - plankonvexes, dicht basophiles und scheinbar strukturloses Chromatinkörperchen. Neben dieser "klassischen" Form beschrieben sie erstmalig noch die Dreieck-, Mikro-, Makro und Längsformen (BOHLE und HIENZ 12).

Was die Entstehung dieses Chromatinkörperchens betrifft, so glaubte BARR (46, 2, 3), dass es sich um eine Zusammenballung der heterochromatischen Anteile der beiden X-Chromosomen in der weiblichen Zelle handele, während bei der Kleinheit des Y-Chromosoms in der männlichen Zelle eine solche Zusammenballung unter der Grenze der lichtmikroskopischen Sichtbarkeit liege.

Diese Theorie fand auch Unterstützung von REITALU (55), KLINGER (36) und LUDWIG (37). Nach REITALU (55) besteht das BARR'sche Körperchen aus zwei grossen, heterochromatischen von den X-Chromosomen stammenden Segmenten, die die Neigung haben sich parallel zu stellen.

Im Gegensatz zu dieser Auffassung stehen Autoren wie HIENZ (32,33) und HERTL (30,31), die die Entstehung des BARR'schen Körperchens als ein Stoffwechselproblem der Zelle bzw. des Zellkernes ansehen, wobei ein geschlechtsspezifisches oder zumindest geschlechtsunterschiedliches Stoffwechselgeschehen auch zu geschlechtsverschiedenen morphologischen Bildern führe. (HIENZ 32).

Es könnte sich dann beim BARR'schen Körperchen um aus dem Nucleolus emittierte FEULGEN-positive Nucleoproteide handeln, von denen HERTL (31) verschiedene Formen und Lagerungen beschrieben hat. Zu dieser Theorie würden auch die Beobachtungen von Thea LÜERS (31) passen, dass die BARR'schen Zellkernkörperchen in Lage, Form und Grösse von der jeweiligen Stoffwechselsituation und Zelltätigkeit abhängig sind.

So sind für die Gewebe verschiedener Organe auch jeweils unterschiedliche Indices für die Häufigkeit der BARR'schen Körperchen gefunden worden, wobei eine klare Grenze zwischen weiblichem und männlichem Gewebe zu erkennen ist.

BOHLE und HIENZ (12) fanden in der Epidermis 25-35% (im Extrem 55%) BARR'sche Zellkernkörper bei Frauen und 0-1, 5-3% bei Männern, an den Bindegewebs- und Epithelzellkernen der Placenta Neugeborener 8,7% - 17,3% bei weiblichen und 0,3% - 2,3% bei männlichen Säuglingen, bei Untersuchungen an Mamma- und Prostatakarzinomen betrugen die entsprechenden Werte 14-30% und 0-2,5% bzw. 0-0,5% (HIENZ und EHLERS 34,22). Neuere, z.B. von BOHLE und Mitarbeitern 1965 (13) angestellte Untersuchungen, deuten allerdings darauf hin, dass die Grenze zwischen BARR-positiv und -negativ nicht immer eindeutig zu ziehen ist.

Die schon erwähnten Untersuchungen von HIENZ und EHLERS (34, 22) zeigen aber, dass es bei Mamma-Karzinomen zu einer Diskrepanz zwischen Tumorgewebe und Tumorträger kommen kann: Sie untersuchten Operations- und Obduktionsmaterial von Patientinnen, deren Krankheitsverlauf nach der Mamma-Amputation zu beobachten bzw. retrospektiv zu überblicken war. Durch diese Untersuchungen scheint bewiesen zu sein, dass es Tumoren bei Frauen gibt, die als "weiblich" (BARR-positiv) und andere, die als "männlich" (BARR-negativ) zu klassifizieren sind. Außerdem zeigte sich, dass es gerade die "männlichen" Tumoren waren, die auf die Behandlung mit männlichen Geschlechtshormon und eventueller Ovarektomie nicht ansprachen, sondern eine Verschlechterung des Krankheitsverlaufes mit Progredienz der Metastasenbildung aufwiesen. Patientinnen mit ebenfalls "männlichen" (BARR-negativen) Tumoren, bei denen eine postoperative Hormonbehandlung unterlassen worden war, zeigten deutlich einen günstigeren Krankheitsverlauf. Diese Beobachtungen von HIENZ und EHLERS wurden inzwischen durch eine Reihe ähnlicher Untersuchungen unterstützt (REGELE, KAUFMANN, VERDERBER und WASL 54; EHLERS, NURI und HOCHBERG 23; LORBECK 38), zum Teil eingeschränkt

und zum Teil wurde ihnen auch widersprochen.

So kamen BOHLE,BÜRGER, FISCHBACH und SCHÖLL (13) zu dem Befund, dass sowohl die BARR-positiven als auch die BARR-negativen Mamma-Karzinome durch die Therapie mit gegengeschlechtlichem Hormon negativ beeinflusst werden und die Lebenserwartung durch eine solche Therapie gemindert wird. Sie stellten auch fest, dass das BARR-negative Mamma-Karzinom keine schlechtere Prognose hat, als das BARR-positive.

Es ist heute noch nicht geklärt, wie es zu einer solchen Diskrepanz zwischen dem Geschlecht des Tumorträgers und des Tumors kommt. Eine Möglichkeit zur Deutung findet sich nach Meinung von HIENZ (33) in der von K.H.BAUER (7, 8) 1928 aufgestellten Mutationstheorie, nach der die Geschwulstentstehung als "Übergang von Körperzellen in Geschwulstzellen durch mutative Änderung der wachstumssteuernden Erbstrukturen somatischer Zellen" (K.H.BAUER) aufzufassen sei.

HIENZ nimmt aber an, dass solche Mutationen - er lehnt die "Grossmutation" ab und spricht von einer Aneinanderreihung von Mikromutationen - nicht nur die Autosomen sondern auch die Heterochromosomen betreffen können. Eine "Geschlechtsumwandlung" der Zellen von weiblich zu männlich wäre dann nach HIENZ (33) auf folgende Weise zu erklären: "Der Verlust eines X-Chromosoms muss bei erhaltener Teilungsfähigkeit dieser Zellen zu einem XO-Bild und damit zu einem männlichen Geschlecht der folgenden Generationen führen, soweit nicht eine Reduplikation des übriggebliebenen X-Chromosoms zwecks Restaurierung des eingetretenen Mutationsdefektes auftritt."

Auf entsprechende Weise müsste über eine Reduplikation des übriggebliebenen und ungeschädigten X-Chromosoms

eine Umwandlung von männlich zu weiblich vor sich gehen. Diese Art der Geschlechtsumwandlung von männlich zu weiblich nach der eben beschriebenen Theorie wäre allerdings schwieriger, wie die Umwandlung von weiblich zu männlich, wofür in der Praxis das sehr viel seltenere Vorkommen von Männern mit "weiblichen Tumoren" spräche (HIENZ 33).

HUNTER und LENNOX (35) vertraten eine andere Theorie über die Entstehung der Geschlechtsumwandlung. Sie legen ihr eine Befruchtung zweier haploider Zellen oder zweier dystropher Keimzellen zugrunde, wobei dieser Vorgang gleichzeitig das Tumorwachstum induzieren soll.

TAVARES (57, 58) glaubte, dass es durch eine Parthogenese haploider Zellen mit anschliessender Chromosomenreduplikation zu einer XX- und XY-Kombination und zu einer Geschlechtsumwandlung komme.

In einem direkten Zusammenhang mit der Differenzierungsstufe des Tumors bringen MEIER-RUGE und KALLENBERGER (43) die Häufigkeit von BARR'schen Körperchen im Tumorgewebe. Nach ihrer Meinung ist der Verlust an Zellkernkörpern nicht als Zeichen der "Virilisierung" des Tumors, sondern als Hinweis auf die Entdifferenzierung anzusehen.

Bei den vorliegenden Untersuchungen interessierte die Frage, ob die geschlechtlich festgelegte Zelle durch eine Gabe von gegengeschlechtlichem Hormon oder durch die kombinierte Behandlung mit gegengeschlechtlichem Hormon auf Röntgenbestrahlung in ihrer Geschlechtlichkeit in irgendeiner Weise beeinflusst werde, bzw. wie die BARR'schen Körper auf eine solche Behandlung reagieren würden.

Das prozentuale Vorkommen und die Morphologie der BARR'schen Körper hat sich in den von uns behandelten

HeLa-Zellen - von geringen Abweichungen abgesehen - gegenüber den Kontrollen nicht verändert. Aus diesem Untersuchungsergebnis lässt sich folgern, dass durch die Behandlung mit gegengeschlechtlichen Hormonen oder gleichgeschlechtlichem Hormon oder durch eine Kombination von gegengeschlechtlichem Hormon mit Rö-Bestrahlung die Häufigkeit der BARR'schen Körper nicht beeinflusst wird.

Unsere Untersuchungsbefunde stehen allerdings in einem gewissen Gegensatz zu der von BIRKNER, BOEK und KLOOS (10) mitgeteilten Beobachtung, wonach die Häufigkeit an BARR'schen Kernkörpern während einer Rö-Bestrahlung im Verhältnis zur Rückbildung des Tumors abnimmt. Das Untersuchungsmaterial von BIRKNER und Mitarbeitern stammt offenbar aus Tumoren, die über längere Zeit hin bestrahlt worden waren. Es ist durchaus denkbar, dass bei langdauernder Strahlenbehandlung sich andere Untersuchungsergebnisse einstellen, wie bei unserer nur relativ kurzen Beobachtungszeit. Andererseits könnte man die im Verhältnis zur Rückbildung des Tumors stehende Abnahme an BARR'schen Körperchen auch so erklären, dass Nicht-Tumorzellen mit einem niedereren Index für BARR'sche Kernkörper an die Stelle von untergegangenen Mamma-Karzinomzellen rücken.

Aus unseren Untersuchungsergebnissen liesse sich, wenn man der Entstehung der BARR'schen Körperchen die HIENZ'sche (32, 33) Stoffwechseltheorie zugrunde legt, der Schluss ziehen, dass sich der geschlechtsspezifische Stoffwechsel der Zelle in vitro auf Behandlung mit gegengeschlechtlichem Hormon oder Bestrahlung nicht ändert. Die gegengeschlechtlichen Hormone scheinen aber, wie unsere Untersuchungen zeigen, deutlich in den Stoffwechsel einzugreifen.

So konnten wir unter der Behandlung mit den oben genannten gegengeschlechtlichen Hormonen bei unseren

Versuchen eine Zunahme sowohl der mittelständigen wie auch der randständigen Chromozentren feststellen. Außerdem fiel uns bei der Auswertung der Zellkerne auf, dass unter der Behandlung mit diesen gegengeschlechtlichen Hormonen vermehrt Ausbuchtungen an den Zellkernen auftraten. Es wurden Zellkerne beobachtet, die nur ein oder zwei Ausbuchtungen aufwiesen, und andere, die viele Ausbuchtungen hatten und geradezu nach verschiedenen Seiten auseinanderzufliessen schienen. Außerdem waren noch Zellkerne zu sehen, die hantel- oder nierenförmig waren und in der Mitte eine Einschnürung hatten.

Obwohl es immer wieder Autoren gab, die die Amitose als Sammelbezeichnung für diese Art von Erscheinungsbildern bei Zellkernen anführten, so z.B. 1954 PISCHINGER (52), der "äquale, inäquale Amitose, Meramitose, Knospung kleinster Kerne" als "bekannte Formen der Amitose" erwähnte (ähnlich auch GRAU), +) haben wir in Anlehnung an BUCHER (18, 20) zwischen Knospung, Fragmentierung und Amitose unterschieden. Mit dieser Auffassung stehen wir auch in einem gewissen Gegensatz zu BENNINGHOFF (9), der jede Form der Oberflächenvergrösserung des Zellkerns mit Amitose bezeichnen wollte, wobei er allerdings in "Reaktionsamitosen" und "Teilungsamitosen" unterteilte.

Die Amitose:
Über das Wesen und den genauen Vorgang der Amitose ist erst wenig bekannt - ja es gibt noch Autoren, die ihre Existenz überhaupt bezweifeln -. Beobachtungen der Amitose in der lebenden Kultur unter dem Mikroskop, wie MACKLIN 1916 (41, 40, 42) sie erstmals und später neben anderen 1929 auch BUCCIANTE (16), 1931 BLOOM (11), 1932 PARKER (50) und schliesslich 1958 BUCHER (19) gesehen haben, scheinen aber doch zu beweisen, dass es eine Amitose im engen Sinn gibt und dass sie eine physiologische

+) (29)

Art der Zellkernvermehrung (mit einer eventuell nachfolgenden Plasmateilung) darstellt.

Bei der amitotischen Kernteilung - auch direkte Kernteilung genannt - halbiert sich der Zellkern, ohne dass sich, wie bei der mitotischen Teilung, die Chromosomen spiralisieren und sichtbar werden. In welcher Weise bei der amitotischen Teilung die Chromosomen auf die Tochterzellen verteilt werden, ist noch unbekannt. Vor der völligen Trennung der beiden Tochterzellkerne sehen die Kerne hantel- oder nierenförmig und je nach dem Stadium mehr oder weniger stark eingeschnürt aus.

Kernknospung und Kernfragmentierung:
Zwischen der Zellkernknospung und der Zellkernfragmentierung sind die Übergänge noch fliessender als zwischen der Knospung und der Fragmentierung einerseits und der Amitose andererseits. In der Literatur findet man keine klare Unterscheidung zwischen der Zellkernknospung und der Zellkernfragmentierung, obwohl diese beiden Begriffe so oft nebeneinander aufgeführt, aber auch einander gegenübergestellt werden.

"Die Kernknospung ist" - schrieb FEYRTER (24) - "die Bildung rundlicher oder nasenförmiger ... Knospen und Sporne, die sich strecken und stielen können." Als Kriterium gegenüber der Kernfragmentierung ist vielleicht anzuführen, dass man von Kernknospung eher dann spricht, wenn ein Zellkern nur ein oder zwei solcher nasenförmigen Ausstülpungen hat. Bei der Knospung ist der Hauptkern, der die Knospe oder die Knospen trägt, in seinen Umrissen klar und abgerundet. Der in Fragmentierung begriffene Kern ist unregelmässig geformt und scheint nach verschiedenen Seiten auseinanderzufliessen. BREIDER (14, 15) schreibt über die Fragmentierung von einer "...multiplen Zerfallsteilung." Die Gegenüberstellung der beschreibenden Begriffe "Knospung" und "multiple Zerfallsteilung" charakterisiert

vielleicht die Erscheinungsformen der Zellkernknospung und der Zellkernfragmentierung am besten.

Wie wir schon oben gesagt haben, ist die Amitose, die Kernknospung und die Kernfragmentierung noch nicht endgültig gegenseitig abgrenzbar. Die Lösung dieses Problems scheint sich aber immer mehr dahin zu verdichten, dass die Amitose neben der Mitose einen physiologischen Teilungsvorgang darstellt, während die Kernknospungen und die Kernfragmentierung als ein Zeichen der Zelldegeneration anzusehen ist, die unter zellschädigenden oder zellwachstumshemmenden Einflüssen vermehrt aufzutreten scheint.

So hat MACKLIN (40, 41, 42) Knospungen und Fragmentierungen an alten, d.h. einige Tage nicht umgepflanzten Deckglaskulturen beobachten können. Dass O_2-Mangel für Knospungen und Fragmentierungen auslösend wirken können, haben BARTA (6) und DAWSON (21) festgestellt.

BUCHER (17) bekam durch die Behandlung mit Colchicin vermehrt Knospungen und Fragmentierungen, während WENDT (59) und POMERAT, KENT und LOGIE (53) durch Bestrahlung diese Kernmodifikationen hervorrufen konnten.

Auf unsere Untersuchungen zurückkommend, die einen deutlichen Anstieg von Kernknospungen auf die Behandlung mit gegengeschlechtlichem Hormon zeigen, liesse sich das gegengeschlechtliche Hormon in die Reihe der oben genannten zellschädigenden Substanzen einordnen. Analog könnte man die Verringerung an Knospungen, die auf die Behandlung mit gleichgeschlechtlichem Hormon auftritt, so erklären, dass das gleichgeschlechtliche Hormon einen gewissen Schutz für die Zelle darstellt.

Diese Untersuchungsergebnisse werfen generell die Frage auf, ob nicht ein Teil der cytostatischen Wirkung von

gegengeschlechtlichen Hormonen bei Mamma- und bei Prostata-Karzinomen auf einer Zelldegeneration beruht, wie sie von uns hier beschrieben wurde.

Was die Unterscheidung zwischen Zellkernknospung und Zellkernfragmentierung betrifft, so sind wir der Meinung, dass die Kernknospung gegenüber der Kernfragmentierung eine abgeschwächte Form der Zelldegeneration darstellt.

Den Beobachtungen von WENDT (59) und POMERAT mit Mitarbeitern (53) entsprechend hatten auch wir auf Röntgenbestrahlung hin eine Vermehrung von Knospungen und Fragmentierungen feststellen können. Bei der Kombination von Röntgen-Bestrahlung mit gegengeschlechtlichem Hormon war die Wirkung allerdings geringer, als bei der alleinigen Hormonbehandlung.

Während durch die Behandlung mit gegengeschlechtlichem Hormon Kernknospungen und Kernfragmentierungen zunehmen, zeigen die Amitosen unter der Hormonbehandlung eine Konstanz in der Häufigkeit ihres Vorkommens.

Diese Beobachtung bestätigt unsere Meinung, dass es sich bei der Amitose um einen gegenüber der Kernknospung und der Kernfragmentierung unterschiedlichen Vorgang handelt.

Abschliessend sei noch auf das Phänomen hingewiesen, wonach bei der Hormonbehandlung oft die Ergebnisse der II. Konzentration aus dem Gesamtbild herausfallen. Diese Erscheinung hat sehr wahrscheinlich darin ihre Ursache, dass die II. Konzentration für die Zelle eine optimale Wirkung besitzt, während die beiden anderen Konzentrationen entweder zu schwach oder zu stark sind.

IV. Zusammenfassung.

Die Häufigkeit von HeLa-Zellen mit BARR-positiven Zellkernen wird unter dem Einfluss von gegengeschlechtlichen Hormonen (Testosteron-Ciba, Testosteron-Schering), gleichgeschlechtlichem Hormon (Progynon-B), von 200 R Röntgen und der Kombination von Röntgenbestrahlung und Hormonbehandlung (Testosteron-Sch.) nicht signifikant verändert.

Testosteron-Schering bewirkt eine signifikante Abnahme der Kerne mit 1-2 und 3-4 mittelständigen Chromozentren, sowie eine Zunahme der Kerne mit 5-6 mittelständigen und 2-3 randständigen Chromozentren.

Testosteron-Ciba verursacht eine signifikante Abnahme der Kerne mit 3-4 mittelständigen Chromozentren und eine Zunahme der Kerne mit 2_3 randständigen Chromozentren.

Progynon-B ruft eine signifikante Abnahme der Kerne mit 3-4 mittelständigen Chromozentren hervor.

Durch eine Bestrahlung mit 200 R Röntgen, sowie durch eine Bestrahlung mit zusätzlicher Hormonbehandlung (Testosteron) werden keine signifikanten Veränderungen hervorgerufen.

Das Auftreten von Amitosen in den Kulturen wird weder durch Testosteron-Ciba, Testosteron-Schering, Progynon-B, 200 R Röntgen noch durch die Kombination von 200 R Röntgen mit Testosteron-Schering beeinflusst.

Testosteron-Ciba und Testosteron-Schering führen beide zu einer signifikanten Erhöhung der Kernknospungen und Kernfragmentierungen.

Weder die Bestrahlung mit 200 R Röntgen noch die Kombination von Bestrahlungen und Testosteron-Schering rufen eine Änderung der Kernknospungen und Kernfragmentationen hervor.

Unter der Einwirkung von Progynon-B ist eine deutliche Verminderung der Kernknospungen und Kernfragmentationen sichtbar. Sie liegt allerdings unterhalb der Signifikanzgrenze.

Die Zunahmen der Chromozentren, sowie der Kernknospungen und Kernfragmentationen durch die gegengeschlechtlichen Hormone werden als Stoffwechselstörungen gedeutet. Dementsprechend bedeutet eine Abnahme dieser Veränderungen eine positive Beeinflussung des Kernstoffwechsels. Wir finden diese Tendenz in den Versuchen mit dem gleichgeschlechtlichem Hormon Progynon-B bestätigt.

V. Literaturverzeichnis

1. BARR, M.L.: The morphology of neuroglial nuclei in cat according to sex. Exp. Cell. Res. 2, 288 (1951).

2. BARR, M.L.: The sex chromatin and its application to errors in sex development. In modern trends in obstetrics and gynecology. London 1955. Butterworth. Chapter 7, 117.

3. BARR, M.L.: Cytological test of sex. Lancet 1956 1, 47.

4. BARR, M.L. and E.G. BERTRAM: A morphological distinction between neurons of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature, 163, 676 (1949).

5. BARR, M.L., L.F. BERTRAM and H.A. LINDSAY: The morphology of the nerve cell nucleus, according to sex. Anat. Rec. 107, 283 (1950).

6. BARTA, E.: Deficient oxidation as a cause of giant cell formation in tissue cultures of lymph nodes. Arch. exp. Zellforsch. 2, 6-30 (1926).

7. BAUER, K.H.: Mutationstheorie der Geschwulstentstehung. Berlin 1928.

8. BAUER, K.H. : Das Krebsproblem. Einführung in die allgemeine Geschwulstlehre. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1949, Springe

9. BENNINGHOFF, A.: Zur Kenntnis und Bedeutung der Amitose und amitosenähnlicher Vorgänge. S.B. Ges. Naturw. Marburg, 45-68 (1922).

10. BIRKNER, R., M. BOEK und K. KLOOS: Primäre Strahlenreaktionen des Mamma-Carcinoms nach präoperativer Tele-Kobalttherapie. Strahlentherapie 127, 481 (1965).

11. BLOOM, W.: Some relationships between the cells of the blood and of the connective tissues. Arch. exp. Zellforsch. II, 145-156 (1931)

12. BOHLE, A. und H.A. HIENZ: Zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung an der Placenta. Klin. Wschr. 1956, 981.

13. BOHLE, A., E. BÜRGER, H. FISCHBACH und A. SCHÖLL: Die Bedeutung der BARR'schen Körperchen beim Mamma-Carcinom. Langenbecks Archiv für klin. Chirurgie Bd. 313, S. 408 Kongressbericht 1965.

14. BREIDER, H.: Die genetischen, histologischen und zytologischen Grundlagen der Geschwulstbildung nach Kreuzung verschiedener Rassen und Arten lebendgebärender Zahnkarpfen. Z.Zellforsch. 28, 784-828 (1938).

15. BREIDER, H.: Über die Vorgänge der Zellvermehrung und -degeneration in sarkomatösen Makromelanophoren.
Z. wiss. Zool. A. 152, 89-106 (1939).

16. BUCCIANTE, L.: Influenza di temperature molto basse su mitosi di culture "in vitro". Formazione di cellule binucleate.
Protoplasma 5, 142-157 (1929).

17. BUCHER, O.: Zur Kenntnis der Mitose. VI. Der Einfluss von Colchicin und Trypaflavin auf den Wachstumsrhythmus und auf die Zellteilung in Fibrocytenkulturen.
Z. Zellforsch. 29, 283 (1939).

18. BUCHER, O.: Divisions nucleaires amitotiques dans des cultures de fibrocytes apres administration de colchicine.
Acta Anat. (Basel) 4, 60-67 (1947).

19. BUCHER, O.: Gibt es eine Amitose ?
Z. mikr.-anat. Forsch. 64, 100-109 (1958).

20. BUCHER, O.: Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle.
Protoplasmatologica, Handbuch der Protoplasmaforschung Bd. VI. (1959).

21. DAWSON, A.B.: Changes in form (including direct division, cytoplasmic segmentation and nuclear "extrusion") of the erythrocytes of Necturus in plasma.
Amer. J. Anat. 42, 139-153 (1928).

22. EHLERS, P.N. und H.A. HIENZ: Zellkernmorphologisches Geschlecht und hormonelle Beeinflussbarkeit des Mamma-Carcinoms. Langenbeck's Arch. f. klin. Chir. 288, 485 (1958).

23. EHLERS, P.N., M. NURI und C. HOCHBERG: An der chirurgischen Universitätsklinik Heidelberg gesammelte Erfahrungen in der Behandlung des Mammakarzinoms unter besonderer Berücksichtigung des Sexchromatins. Wien. klin. Wo. 76. Jahrg. Nr. 49 870-871 (1964).

24. FEYRTER, F.: Über den zelligen Bestand des Stroma der menschlichen Corpusmucosa. Arch. Gynäk. 190, 47-82

25. FISHER, R.A.:Statitical methods for research workers. London 1938.

26. GEITLER, L.: Die Analyse des Kernbaus und der Kernteilung der Wasserläufer Gerris lateralis und Gerris lacustris (hemiptera, heteroptera) und die Somadifferenzierung. Z. Zellforsch. 26, 641 (1937).

27. GEY, G.O., W.D. COFFMAN and M.T. KUBICEK: Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. Cancer Res. 12, 264 (1952).

28. GRAHAm, M.A. and M.L. BARR: A sex difference in the morphology of metabolic nuclei in somatic cells of the cat. Anat. Rec. 112, 709 (1952).

29. GRAU, H.: Über die Herkunft der Lymphozyten. Tierärztl. Umschau 9, 392-396 (1954).

30. HERTL, M.: Kernvolumen und Nukleolarapparat wachsender Linsenzellen. Z. Zellforsch. 43, 228 (1955).

31. HERTL, M.: Zum Nukleolus-Problem Z. Zellforsch. 46, 18 (1957).

32. HIENZ, H.A.: Zellkernmrophologische Geschlechtserkennung bei Säugetier und Mensch. Dtsch. med. Wschr. 1957, 1986.

33. HIENZ, H.A.: Die zellkernmorphologische Geschlechtserkennung in Theorie und Praxis. Einzeldarstellungen aus Theorie und Klinik der Medizin. Dr. Alfred Hüthig Verlag Heidelberg Bd. 10 (1959).

34. HIENZ, H.A. und P.N. Ehlers: Das zellkernmorphologische Geschlecht von Mamma- und Prostata-Carcinomen. Klin.-Wschr. 1957, 985.

35. HUNTER, W.F. and B. LENNOx: The sex of teratomata. Lancet 1954 11, 633.

36. KLINGER, H.P.: The fine structure of the sex chromatin body. Exp. Cell. Res. 14, 207 (1958).

37. KLINGER, H.P. and K.S. Ludwig: A universal stain for the sex chromatin body. Stain Technol. 32, 235 (1957).

38. LORBECK, W.: Gezielte Recidivprophylaxe beim Mamma-Carcinom mit Hormonen. Langenbeck's Arch. f. klin. Chirurg. 313, 408. Kongressbericht 1965.

39. LUERS, TH.: Das Geschlecht der Zellkerne. Naturw. Rundsch. 1958, 259.

40. MACKLIN, C.C.: Amitosis in cells growing in vitro. Biol. Bull. 30, 445-467 (1916).

41. MACKLIN, C.C.: Binucleate cells in tissue cultures. Contr. Embryol. Carneg. Inst. 4, 69-106 (1916).

42. MACKLIN, C.C.: Binucleate and multinucleate cells in tissue cultures. Anat. Rec. 10, 225 (1916).

43. MEIER-RUGE, W. und A. KALLENBERGER: Das Mamma-Carcinom in seiner Relation zum pathologisch-anatomischen Bild und Sexchromatingehalt Med. Welt Nr. 14, 871 (1967).

44. MOORE, K.L. and M.L. BARR: Morphology of the nerve cell nucleus in mammals, with special reference to sex chromatin. J. comp. Neurol. 98, 213 (1953).

45. MOORE, K.L. and M.L. BARR: Nuclear morphology, according to sex, in human tissues. Acta anat. (Basel) 21, 197 (1954).

46. MOORE, K.L., M.A. GRAHAM and M.L. BARR: The detection of chromosomal sex in hermaphrodites from a skin biopsy. Surg. Gynec. Obstet. 96, 641 (1953).

47. MOORE, K.L., M.A. GRAHAM and M.L. BARR: Sex chromatin in the freemartin.
Anat. Rec. 121, 442 (1955).

48. MOORE, K.L., M.A. GRAHAM and M.L. BARR: The sex chromatin of the bovine freemartin.
J. exper. Zool. 135, 101 (1957).

49. MYLLE, M. and M.A. GRAHAM: Sex chromatin in neurons of human frontal corte and sympathetic ganglia.
Anat. Rec. 118, 402 (9154).

50. PARKER, R.C.:The races that constitute the group of common fibroblaste. I. The effect of blood plasma.
J. exper. Med. 55, 713-734 (1932).

51. PETERS, K.: Untersuchungen über die Einwirkung von Elektronenstrahlen auf Karzinomzellen (Stamm HeLa) in Gewebekulturen.
Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuclearmedizin.
Bd. 88, 50 (1958).

52. PISCHINGER, A.: Über das Wesen der Kupffer-Sternzellen.
Z. Zellforsch. 40, 605-611 (1954).

53. POMERAT, C.M., S.P. KENT and L.C. LOGIE: Irridation of cells in tissue culture.
I. Giant cell induction in strain cultures versus elements from primary explants.
Z. Zellforsch. 47, 158-174 (1957).

54. REGELE, H., F. KAUFMANN, W.VERDERBER und H.WASL: Erfahrungen mit Sexchromatin und Hormontherapie beim Mammakarzinom.
Wien. Klin. Wschr. 76. Jahrg., Nr. 49, 871-873.

55. REITALU, J.: Observations on the so-called sex chromatin in man.
Acta fenat. med. e gemellol (Roma) 6, 393 (1957).

56. SMITH, St. G.: The diagnosis of sex by means of heteropycnosis.
Mc. Gill. med. J. 13, 451 (1944).

57. TAVARES, A.S.: On the sex of cancer and teratomata cells.
Lancet 1955, I. 948.

58. TAVARES, A.S.: Sobre as caracteristica sexuais dos nucleos celulares.
J. de Medico 27, 707 (1955).

59. WENDT, E.: Lebendbeobachtungen an bestrahlten Interphasekernen.
Z. Zellforsch. 49, 677-689 (1959).

A N H A N G

Tabellen und Bilder

Tabelle I:

Mit Testosteron-Schering behandelte Kulturen

Präparat	mittelständige Chromozentren ohne	1-2	3-4	5-6	randständige Chromozentren 1	2-3	positiv
Kontrolle							
1	3	7	26	35	10	11	8
2	0	8	28	29	20	7	8
3	0	0	27	48	14	7	4
4	3	8	22	47	6	6	8
5	1	1	26	33	20	13	6
Summe	7	24	129	192	70	44	34
I.Konzentration							
1	0	0	1	56	19	17	7
2	0	0	7	55	15	17	6
3	0	0	5	47	26	15	7
4	0	1	4	48	28	11	8
5	0	0	5	59	14	17	5
Summe	0	1	22	265	102	77	33
II.Konzentration							
1	0	0	0	37	18	30	15
2	0	0	15	52	15	14	4
3	0	0	7	38	11	31	13
4	0	0	3	57	17	16	7
5	0	0	3	64	15	11	7
Summe	0	0	28	248	76	102	46
III.Konzentration							
1	0	0	7	42	21	22	8
2	0	0	0	62	23	10	5
3	0	0	3	45	18	25	9
4	0	0	2	51	27	14	6
5	1	0	2	50	13	24	10
Summe	1	0	14	250	102	95	38

Tabelle II:

Mit Testosteron-Ciba behandelte Kulturen

Präparat	mittelständige Chromozentren				randständige Chromozentren		
	ohne	1-2	3-4	5-6	1	2-3	positiv
Kontrolle							
1	0	0	12	60	15	5	8
2	0	0	5	58	16	15	6
3	0	0	6	66	16	7	5
4	0	0	5	44	17	23	11
5	0	0	9	47	16	20	8
Summe	0	0	37	275	80	70	38
I.Konzentration							
1	0	0	6	42	17	30	5
2	0	0	7	55	21	12	5
3	0	0	2	46	19	25	8
4	0	0	1	49	17	25	8
5	0	0	0	46	22	25	7
Summe	0	0	16	238	96	117	33
II.Konzentration							
1	0	1	0	51	12	26	10
2	0	0	0	56	15	22	7
3	0	0	0	53	16	25	6
4	0	0	0	48	18	27	7
5	0	0	0	52	17	26	5
Summe	0	1	0	260	78	126	35
III.Konzentration							
1	0	0	0	48	17	31	4
2	0	0	0	38	31	24	7
3	0	0	0	53	21	21	5
4	0	0	0	51	24	18	7
5	0	0	0	44	24	24	8
Summe	0	0	0	234	117	118	31

Tabelle III:

Mit 200 R Rö bestrahlte Kulturen mit und ohne zusätzliche Testosteron-Schering-Behandlung.

Präparat	ohne	mittelständige Chromozentren 1-2	3-4	5-6	randständige Chromozentren 1	2-3	positiv
Kontrolle							
1	0	0	0	54	16	21	9
2	0	1	2	55	13	22	7
3	0	0	0	54	16	25	5
4	0	0	0	56	15	21	8
5	0	0	0	57	14	21	8
Summe	0	1	2	276	74	110	37
Testosteron II.Konzentration							
1	0	0	0	49	18	29	4
2	0	0	2	66	10	19	3
3	0	0	1	47	21	24	7
4	0	0	0	56	16	22	6
5	0	0	0	52	17	24	7
Summe	0	0	3	270	82	118	27
200 R Rö							
1	0	0	0	59	14	20	7
2	0	0	0	54	16	21	9
3	0	0	0	62	14	16	8
4	0	0	0	57	16	20	7
5	0	0	0	61	16	16	7
Summe	0	0	0	293	76	93	38
200 R Rö + Test.-Sch. II.Konz.							
1	0	0	0	52	18	23	7
2	0	0	0	51	19	25	5
3	0	0	0	57	12	24	7
4	0	0	0	47	17	24	12
5	0	0	0	55	14	26	5
Summe	0	0	0	262	80	122	36

Tabelle IV

Mit Progynon-B behandelte Kulturen

Präparat	mittelständige Chromozentren ohne	1-2	3-4	5-6	randständige Chromozentren 1	2-3	positiv
Kontrolle							
1	0	0	1	56	18	17	8
2	0	0	3	51	19	20	7
3	0	0	2	56	18	19	5
4	0	0	1	57	18	16	8
5	0	0	3	53	17	20	7
Summe	0	0	10	273	90	92	35
I.Konzentration							
1	0	0	3	50	21	18	8
2	0	2	5	52	17	19	5
3	0	0	0	57	19	17	7
4	0	0	1	45	15	31	8
5	0	0	7	54	17	16	6
Summe	0	2	16	258	89	101	34
II.Konzentration							
1	0	0	1	63	16	14	6
2	0	0	0	52	19	22	7
3	0	0	0	57	17	19	7
4	0	0	0	57	18	20	5
5	0	0	0	55	20	18	7
Summe	0	0	1	284	90	93	32
III.Konzentration							
1	0	0	1	53	19	20	7
2	0	0	0	47	24	22	7
3	0	0	0	56	19	17	8
4	0	0	1	50	22	22	5
5	0	0	0	52	18	22	8
Summe	0	0	2	258	102	103	35

Tabelle V:

Mittelwerte in Prozent zu den Tabellen 1,2,3 und 4

Präparat	mittelständige Chromozentren ohne	1-2	3-4	5-6	randständige Chromozentren 1	2-3	positiv
Reihe: Testosteron-Schering							
Kontrolle	1,4	4,8	25,8	38,4	14,0	8,8	6,8
I.Konzentrat.	0,0	0,2	4,4	53,0	20,4	15,4	6,6
II.Konzentrat.	0,0	0,0	5,6	49,6	15,2	20,4	9,2
III.Konzentr.	0,2	0,0	2,8	50,0	20,4	19,0	7,6
Reihe: Testosteron-Ciba							
Kontrolle	0,0	0,0	7,4	55,0	16,0	14,0	7,6
I.Konzentrat.	0,0	0,0	3,2	47,6	19,2	23,4	6,6
II.Konzentrat.	0,0	0,2	0,0	52,0	15,6	25,2	7,0
III.Konzentr.	0,0	0,0	0,0	46,8	23,4	23,6	6,2
Reihe: 200 R Rö							
Kontrolle	0,0	0,2	0,4	55,2	14,8	22,0	7,4
II.Konz.-T.	0,0	0,0	0,6	54,0	16,4	23,6	5,4
200 R Rö	0,0	0,0	0,0	58,6	15,2	18,6	7,6
200 R Rö + II.Konzentrat.-T.-Sch.	0,0	0,0	0,0	52,4	16,0	24,4	7,2
Reihe: Progynon-B							
Kontrolle	0,0	0,0	2,0	54,6	18,0	18,4	7,0
I.Konzentrat.	0,0	0,4	3,2	51,6	17,8	20,2	6,8
II.Konzentrat.	0,0	0,0	0,2	56,8	18,0	18,6	6,4
III.Konzentr.	0,0	0,0	0,4	51,6	20,4	20,6	7,0

Tabelle VI

Kernknospungen, Kernfragmentierungen und Amitosen

Präparat		normal	Knospungen	Fragmentierungen	Knospungen + Fragmentierungen	Amitosen
Reihe: Testosteron-Schering						
Kontrolle	1	89	10	0	10	1
"	4	87	11	0	11	2
I.Konz.	1	87	12	0	12	1
"	4	86	12	1	13	1
II.Konz.	1	78	17	3	20	2
"	4	79	12	5	17	4
III.Konz.	1	77	15	5	20	3
"	5	82	16	2	18	0
Reihe: Testosteron-Ciba						
Kontrolle	1	85	13	2	15	0
"	4	85	12	1	13	2
I.Konz.	2	72	17	7	24	4
"	3	78	15	6	21	1
II.Konz.	3	76	14	8	22	2
"	4	86	11	3	14	0
III.Konz.	1	77	16	7	23	0
"	4	73	20	5	25	2
Reihe: 200 R Rö						
Kontrolle	3	85	12	1	13	2
"	5	88	7	3	10	2
II.Konz.T-S	1	87	10	2	12	1
"	4	89	10	0	10	1
200 R Rö	1	87	11	2	13	0
"	4	84	9	5	14	2
200 R+T-S.	2	88	11	1	12	0
"	3	86	12	1	13	1

Tabelle VI - Fortsetzung

Präparat		normal	Knospungen	Fragmentierungen	Knospungen + Fragmentierungen	Amitosen
Reihe: Progynon-B						
Kontrolle	1	89	10	1	11	0
"	4	86	10	3	13	1
I.Konz.	3	89	7	4	11	0
"	5	85	7	5	12	3
II.Konz.	3	93	6	1	7	0
"	4	91	7	2	9	0
III.Konz.	3	94	5	1	6	0
"	5	92	7	1	8	0

Tabelle VII

Mittelwerte in Prozent zu der Tabelle VI
(Kernknospungen, Kernfragmentierungen und Amitosen)

Präparat	normal	Knospungen	Fragmentierungen	Knospungen + Fragmentierungen	Amitosen
Reihe: Testosteron-Schering					
Kontrolle	88,0	10,5	0,0	10,5	1,5
I.Konz.	86,5	12,0	0,5	12,5	1,0
II.Konz.	78,5	14,5	4,0	18,5	3,0
III.Konz.	79,5	15,5	3,5	19,0	1,5
Reihe: Testosteron-Ciba					
Kontrolle	85,0	12,5	1,5	14,0	1,0
I.Konz.	75,0	16,0	6,5	22,5	2,5
II.Konz.	81,0	12,5	5,5	18,0	1,0
III.Konz.	75,0	18,0	6,0	24,0	1,0
Reihe: 200 R Rö					
Kontrolle	86,5	9,5	2,0	11,5	2,0
II.Konz. T-Sch.	88,0	10,0	1,0	11,0	1,0
200 R Rö	85,5	10,0	3,5	13,5	1,0
200 R Rö+T-Sch.	87,0	11,5	1,0	12,5	0,5
Reihe: Progynon-B					
Kontrolle	87,5	10,0	2,0	12,0	0,5
I.Konz.	87,0	7,0	4,5	11,5	1,5
II.Konz.	92,0	6,5	1,5	8,0	0,0
III.Konz.	93,0	6,0	1,0	7,0	0,0

Tabelle VIII - Testosteron-Schering

	mittelständige Chromozentren				randständige Chromozentren		
	OHNE	1-2	3-4	5-6	1	2-3	BARR-positiv
Kontrolle	100	100	100	100	100	100	100
Konz.I	0	4,1	17,0	138	145,6	175	97
Konz.II	0	0	21,7	129,1	108,5	232	135,2
Konz.III	14,3	0	10,9	130,1	145,6	215,9	111,7

Tabelle IX - Testosteron-Ciba

Kontrolle	100	100	100	100	100	100	100
Konz.I	0	0	43,2	86,5	120	167,1	86,9
Konz.II	0	0,2	0	94,5	97,5	180,0	92,1
Konz.III	0	0	0	85,1	146,3	168,5	81,6

Tabelle X - Testosteron-Schering + 200 R Röntgenstrahlen

Kontrolle	0	100	100	100	100	100	100
Konz.II T.S.	0	0	150	97,8	110,8	107,3	73
200 R Röntgen	0	0	0	106,2	102,7	84,5	102,7
200 R Rö. + T.S.	0	0	0	95	108,2	111	97,3

Tabelle XI - Progynon B

Kontrolle	0	0	100	100	100	100	100
Konz.I	0	100(D)*	160	94,5	99	109,7	97
Konz.II	0	0	10	104,0	100,0	101,0	91,4
Konz.III	0	0	20	94,5	113,4	112,9	100

* D=Differenzwert

	normal	Knospungen	Fragmentatio	Knospungen + Fragmentatio	Amitosen
Kontrollen	100	100	0	100	100
Testosteron-S					
Konz.I	93,3	114,3	100(D)*	119	66,6
Konz.II	89,2	138,1	800(D)*	176,2	200
Konz.III	90,3	147,6	700(D)*	181	100
Kontrollen	100	100	100	100	100
Testosteron-Ciba					
Konz.I	88,2	128	436	160,7	100
Konz.II	95,2	100	366	128,5	100
Konz.III	88,2	144	400	171,4	100
Kontrollen	100	100	100	100	100
Konz.II Testosteron-Schering	101,7	105,2	50	95	50
200 R Röntgenstrahlen	98,8	105,2	175	117,4	50
200 R Rö + Testoster.-S. Konz. II	100,6	121	50	108,6	25
Kontrollen	100	100	100	100	100
Progynon-B Konz. I	99,4	70	225	95,8	300
Progynon-B Konz.II	105,2	65	75	66,7	0
Progynon-B Konz.III	106,3	60	50	58,3	0

* D=Differenzwert

Tabelle XIII

M_1-M_2	M_D	ϑ_D	P	t	$\vartheta_D \cdot t$	$n_{f=2}$	$M_D = \vartheta_D \cdot t$	sign.
Testosteron-Schering: Abnahme der (3-4) Chromozentren, Kontrolle gegen Konzentration I								
Kontr.-Konz.I	15,5	1,38	0,27%	4,3	5,9	8	>	+
: Zunahme der (5-6) Chromozentren, Kontrolle gegen Konz.I								
Kontr.-Konz.I	14,6	4,57	2,0%	2,9	13,2	8	>	+
: Zunahme der randständigen Chromozentren (1), Kontr. gegen Konz. I								
Kontr.-Konz.I	6,4	3,8	5%	2,3	8,7	8	<	-
: Zunahme der randständigen Chromozentren (2-3) Kontr. gegen Konz.I								
Kontr.-Konz.I	6,6	2,85	5%	2,3	6,59	8	>	+
: Zunahme der BARR-pos. Zellkerne, Kontr. gegen Konz. II								
Kontr.-Konz.II	2,4	2,2	5%	2,3	5,06	8	<	-
Testosteron-Ciba : Abnahme der (3-4) mittelständigen Chromozentren								
Kontr.-Konz.I	4,2	1,94	2%	2,9	4,12	8	>	+
: Zunahme der (2-3) randständigen Chromozentren								
Kontr.-Konz.II	11,2	4,25	5%	2,3	9,78	8	>	+
: Abnahme BARR-pos. Zellkerne								
Kontr.-Konz.III	1,4	1,26	5%	2,3	2,89	8	<	-
Progynon B : Abnahme mittelständiger Chromozentren (3-4)								
Kontr.-Konz.II	1,8	0,49	2%	2,9	1,42	8	>	+
Kontr.-Konz.III	1,6	0,51	2%	2,9	1,48	8	>	+
Bestrahlung + Testosteron-Schering: Abnahme BARR-pos. Zellkerne								
Kontr.-Konz.II	2,0	1,15	5%	2,3	2,65	8	<	-

Tabelle XIV

M_1-M_2	M_D	σ_D	P	t	$\sigma_D \cdot t$	$n_f = n-2$	$M_D = \sigma_D \cdot t$	sign.
Testosteron-Schering: Zunahme der Kernknospungen und Fragmentationen								
Kontr.-Konz.III	8,5	0,86	2%	7,0	6,0	2	>	+
Testosteron-Ciba : Zunahme der Kernknospungen und Fragmentationen								
Kontr.-Konz.III	10	1,58	5%	4,3	6,8	2	>	+
Bestrahlung + Testosteron S. Konz.II: Abnahme der Amitosen								
Kontr.-Konz.II + Bestrahlung	1,5	0,5	5%	4,3	2,15	2	<	-
P r o g y n o n B : Abnahme der Kernknospungen und Fragmentationen								
Kontr.-Konz.III	5,0	1,4	5%	4,3	6,0	2	<	-
P r o g y n o n B : Abnahme der Kernknospungen								
Kontr.-Konz.III	4,0	1,0	5%	4,3	4,3	2	<	-

Abb. I: Zellkern mit 5 mittelständigen Chromozentren

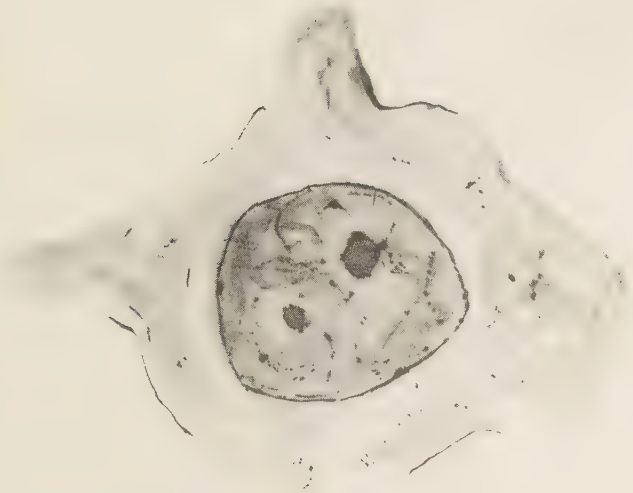


Abb. 2: Zellkern mit 2 randständigen Chromozentren.

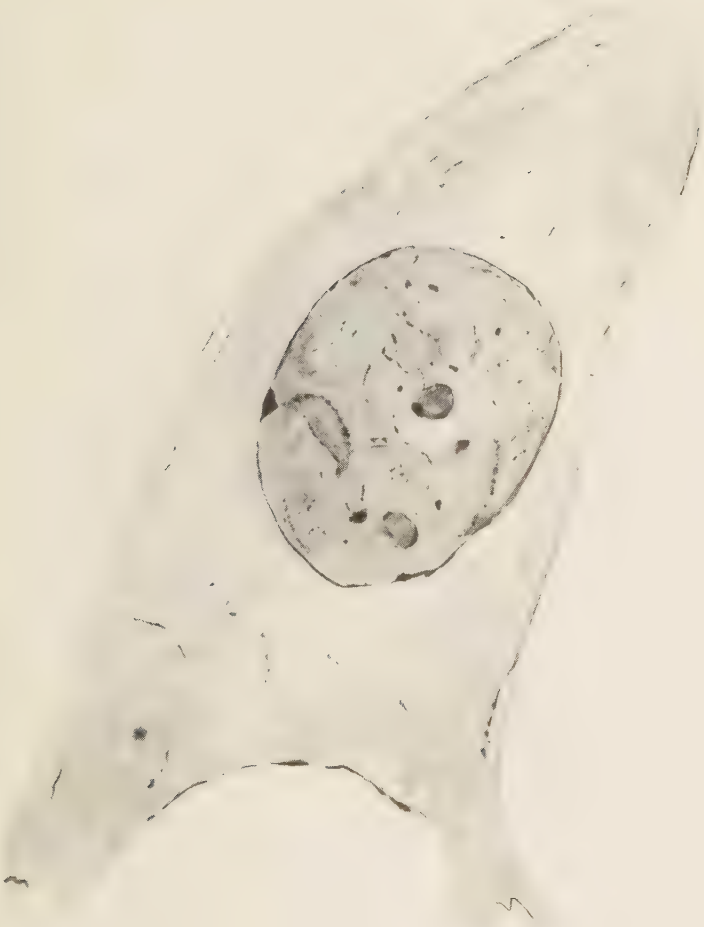


Abb. 3: BARR-positiver Zellkern.

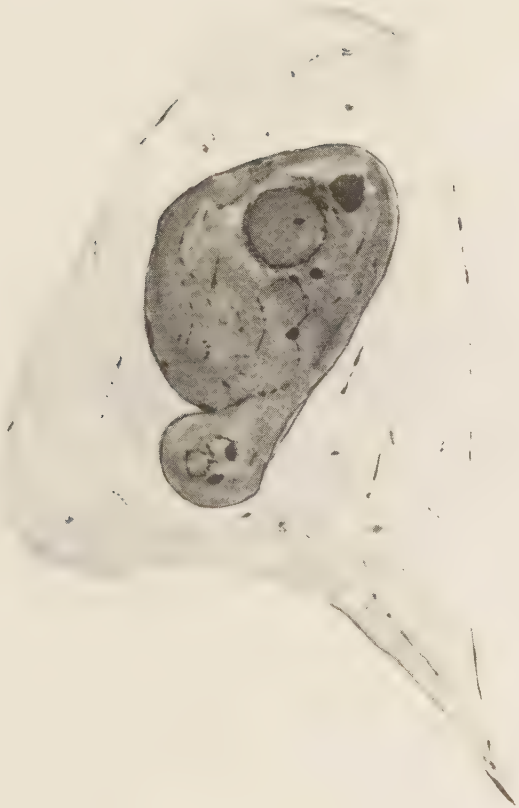


Abb. 4: Zellkern mit I Knospe.

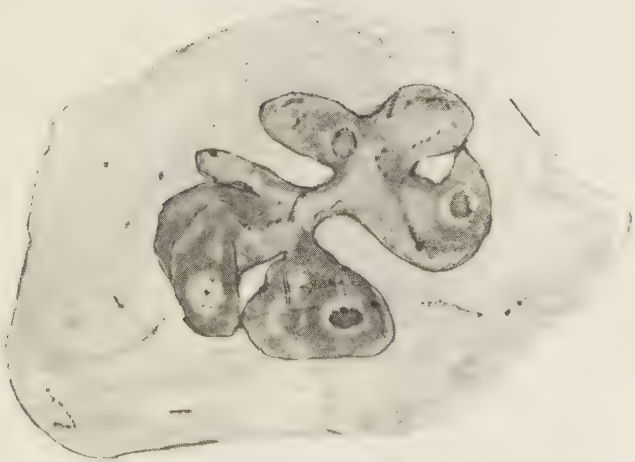


Abb. 5: Fragmentierter Zellkern.

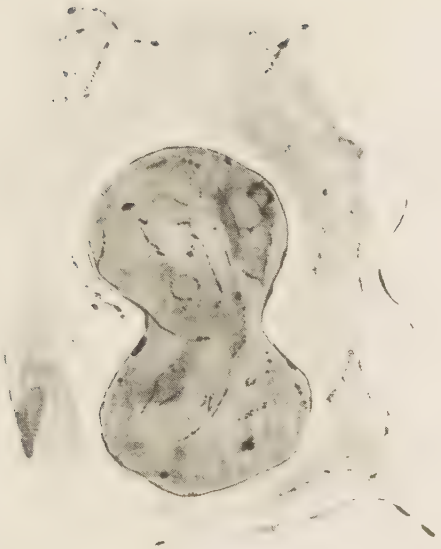


Abb. 6: Zellkern in Amitose.

Lebenslauf

Ich, Hans Gebhard Fark, wurde als jüngstes von den vier Kindern des praktischen Arztes Dr. Gustav Fark und seiner Ehefrau Liselotte geb. Weber am 1.11.1941 in Salem/Baden geboren.

Von Herbst 1947 bis Ostern 1952 besuchte ich die Grundschule in Salem, anschließend trat ich in das Gymnasium der Schulen Schloß Salem ein, wo ich im März 1962 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1962 begann ich mein Medizinstudium in Freiburg und ging im Wintersemester 1962/63 nach Gießen, wo ich im März 1963 das Vorphysikum und im April 1965 das Physikum bestand.

Die ersten beiden klinischen Semester studierte ich in München, danach kam ich im Sommersemester 1966 nach Tübingen. Im Sommersemester 1968 habe ich mein medizinisches Staatsexamen an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen abgelegt.

Druckhaus Frau Elly RUTH, 74 Tübingen